

新素材による人工股関節の開発

茂 呂 徹 高 取 吉 雄 中 村 耕 三
川 口 浩 石 原 一 彦

新しい医療技術

新素材による人工股関節の開発

茂 呂 徹* 高 取 吉 雄** 中 村 耕 三
川 口 浩 石 原 一 彦***

要旨：人工股関節の弛みの阻止のため、関節摺動面に生体適合性リン脂質ポリマー・MPC をナノ表面処理した人工股関節を開発した。この処理により関節摺動面の潤滑機構が改善し、ポリエチレン摩耗粉の産生が著明に抑制される。また、MPC 微粒子は生体内で異物として認識されず、破骨細胞を形成・活性化しないため骨吸収を誘導しない。以上の研究成果は、この技術が人工股関節の弛みを阻止する画期的な新技術となる可能性を強く示唆している。

はじめに

人工股関節手術は、変形性関節症、特発性大腿骨頭壊死症、関節リウマチ、外傷などで喪失した関節の機能を再建し、疼痛を寛解する優れた治療法であり、高齢社会を迎えたわが国においては、手術件数が年々増加している。しかし、手術後に生じる弛み (loosening) はその長期予後を決する最大の合併症である¹⁾。弛みは人工股関節周囲の骨吸収を伴い進行性であり、疼痛や歩行障害を引き起こすため、再置換手術が必要になる。したがって、人工股関節手術を受けた患者は再置換術の潜在的な対象であり、人口の高齢化が進むわが

国において、その件数は今後増加し続けると予想される²⁾。

弛みの過程は、関節摺動面を構成する超高分子量ポリエチレン (ultra high molecular weight polyethylene ; PE) 製ライナーが骨頭との摩擦により摩耗し、微小摩耗粉を生じることから始まる。この摩耗粉は macrophage (MΦ) に貪食され、MΦ はサイトカインやプロスタグランジン (PG) を分泌する。これらの生体活性物質は周囲の間葉系細胞に作用し、破骨細胞分化因子・receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) の発現を誘導する。その結果、破骨細胞の形成・活性化が促進され、人工股関節周囲の骨吸収に至る¹⁾。したがって、現在までの弛み抑制のための研究は、摩耗粉を減少させること、あるいは骨吸収を抑制することの2つの方向性で検討されてきた。摩耗粉を減少させる試みとしては、PE の改質や PE を使わない人工股関節の開発などがなされてきた。PE を高温・高圧で処理し、結晶化率を高める試みは実用化に至ったものの、短期間に弛みが生じ失敗に終わった³⁾。γ 線照射をすることで PE の非結晶部分の架橋 (crosslink) を増加させたクロスリンクポリエチレン (CLPE) は、摩耗の抑制には有

* Toru MORO, 東京大学医学系研究科, 疾患生命工学センター

** Yoshio TAKATORI et al, 東京大学医学部, 整形外科教室

*** Kazuhiko ISHIHARA, 東京大学大学院工学系研究科

Nano-grafting of biocompatible phospholipid polymer on the polyethylene liner for preventing aseptic loosening of the artificial hip joints

Key words : Total hip replacement, Aseptic loosening, Osteolysis

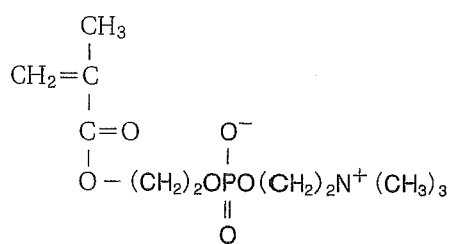
効であるものの⁴⁾、摩耗粉が骨吸収を誘導するという問題は解決されていない。金属対金属の関節面を持つ人工股関節は金属イオンの毒性の問題が指摘されており、セラミックスの人工股関節は少数ではあるが体内での破損例も報告されている⁵⁾⁶⁾。また、骨吸収を抑制する試みとしては、抗サイトカイン抗体などを用いた薬物治療や遺伝子治療が研究されているが、全身への影響による副作用が避けられない問題として残っている⁷⁾⁸⁾。以上のように、弛みの抑制のため数多くの研究開発

が行われてきたが、摩耗と骨吸収のどちらかの抑制を目指した研究では決定的な解決策を得るには至っておらず、その双方の抑制を同時にかなえることができる人工股関節が求められている。

われわれは、人工股関節摺動面の潤滑性を改善し、かつ摩耗粉による細胞系の活性化を抑制すれば弛みを阻止できると考えた。生体の関節軟骨表面にはナノスケールのリン脂質の層が存在し、表面潤滑の改善の役割を果たしている⁹⁾。そこで、われわれは、2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) という生体適合性リン脂質ポリマーに着目した。

I. MPC ポリマーの構造と性質

MPC ポリマーは、石原らが合成・開発した高分子材料である¹⁰⁾。MPC ポリマーは生体細胞膜と同様ホスホリルコリン基を有するため、生体内で異物として認識を受けず、優れた生体適合性を発揮する(図1)。また、生体との相互作用も抑制するため、MPC ポリマー表面のタンパク吸着や血栓形成が抑制される¹¹⁾¹²⁾。これらの優れた特性を活かし、医療分野への応用を目指した様々な研究開発が行われており、その一部はすでに認可を受け国内外で実用化されるなど、生体内の安全性は



ホスホリルコリン基

図1 MPC の構造

MPC ポリマーは、生体細胞膜と同様にホスホリルコリン基を有するため、生体内で異物としての認識を受けず、優れた生体適合性を発揮する。

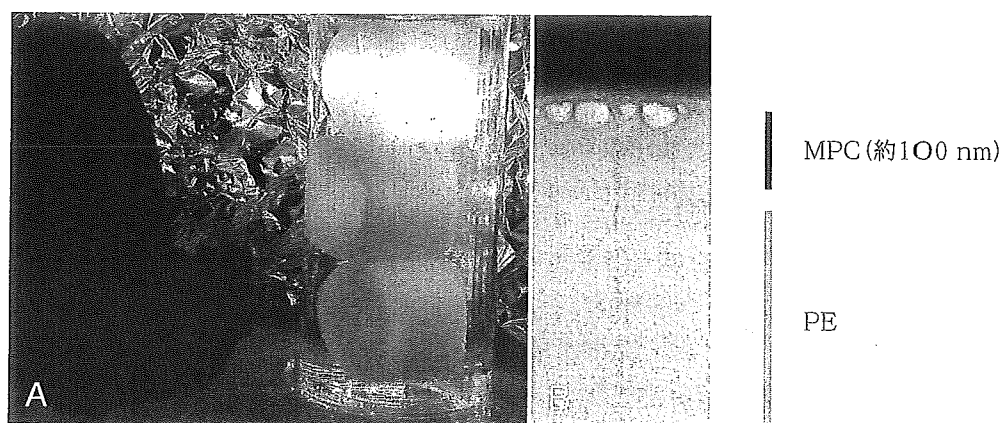


図2 ポリエチレンライナー表面の MPC ポリマー処理

- A 光グラフト重合。MPC 溶液にポリエチレンライナーを入れ、紫外線を用いて光学的にグラフト重合を行う。
- B ポリエチレンライナー表面の FE-TEM 像。ポリエチレンの表層に厚さ約 100 nm の MPC ポリマー層が形成される(表層の空胞は標本作製時のもので、実際のライナー表面には存在しない)。

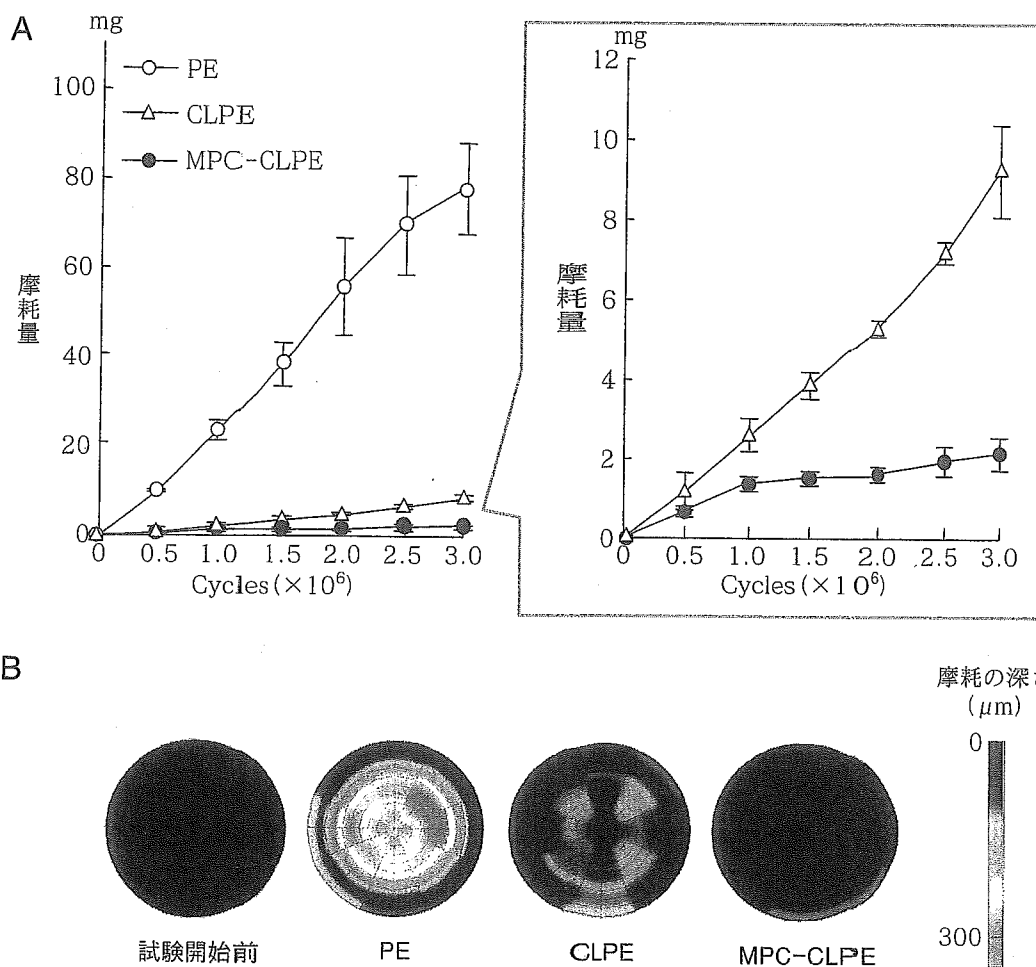


図 3 股関節シミュレーター試験の結果〔文献 15〕を一部改変〕

- A** ライナーの摩耗量。MPC-CLPE の摩耗量は PE の 1/40, CLPE の 1/4 と、著明に抑制された。
- B** ライナーの三次元解析。未処理のライナーでは顕著な摩耗が観察できたが、MPC-CLPE はほとんど摩耗していなかった。

確立されている¹³⁾¹⁴⁾。

II. PE ライナー表面の MPC ポリマー処理

われわれは人工股関節の弛みの抑制のため、PE ライナー表面へ MPC ポリマーをグラフト重合させる手法を創案した (MPC ポリマー処理)¹⁵⁾。この処理は、紫外線を用いて MPC と PE の炭素原子同士に強力かつ安定な共有結合をさせるもので、表層のみの処理であり、基材である PE 自体には影響を及ぼさない (図 2 A)¹⁶⁾。また、電界放射型透過電子顕微鏡 (Field Emission Transmission Electron Microscope; FE-TEM) による表面観察で、その処理厚みが約 100 nm と、ナノスケール

であることが明らかになっている (図 2 B)。われわれは人工股関節の PE ライナーの MPC ポリマーによるナノ表面処理が弛みの阻止に与える影響を、耐摩耗性と摩耗粉が骨吸収に与える影響の観点から検討してきたが、今回人工股関節の寿命を飛躍的に延長し得る知見を得たので報告する。

III. 耐摩耗性の評価

生体の股関節は、その歩行周期の中で様々な方向から体重の数倍の負荷を受ける。そこで、より生体内に近い環境下での耐摩耗効果を観察するため、連続 300 万サイクルの股関節シミュレーター試験を行った。骨頭には市販品のコバルトクロム

モリブデン合金骨頭（径 22 mm）を用いた。ライナーは同じく市販品の CLPE 表面を MPC ポリマー処理したもの（MPC-CLPE）を用い、PE および未処理の CLPE と比較した。

PE 表面は疎水性であるが、親水性の MPC ポリマーでナノ表面処理することにより、表面の「水なじみ」が改善し、関節摺動面の潤滑機構が向上する¹⁷⁾。このため、関節摺動面の摩擦トルクを測定すると、MPC-CLPE のトルクは未処理群の約 1/10 と改善していた。

ライナーの摩耗は、重量変化、走査電子顕微鏡（Scanning Electron Microscopy ; SEM）による観察、三次元解析を用いて検討した。まず、経時的にライナーの重量変化を計測すると、MPC-CLPE の摩耗量は PE の 1/40、CLPE の 1/4 であった（図 3 A）。試験終了後のライナー表面を SEM で観察すると、未処理群では、製品加工時のマシンマークが摩耗により消失していたが、MPC-CLPE では残存しており、摩耗が著明に抑制されていた。また、ライナーの三次元解析でも、未処理群では顕著な摩耗が観察できたのに対し、MPC-CLPE はほとんど摩耗していなかった（図 3 B）。

ライナー表面の MPC ポリマー処理効果の残存の有無は、X 線光電子分光分析装置（X-ray Photoelectron Spectroscopy ; XPS）、FE-TEM により検討した。試験終了後の MPC-CLPE ライナー表面を XPS で解析すると、試験開始前の解析結果と同様、表面に MPC ユニット特有のリン（P）・窒素（N）のスペクトルが観察できた。また、試験終了後の MPC-CLPE ライナーを FE-TEM で解析しても、MPC ポリマー処理層は残存していた。

以上のシミュレーター試験により、人工股関節ライナー表面のナノ MPC 処理が、関節摺動面の潤滑機構を改善し、摩耗粉の産生を著明に抑制すること、その処理効果は少なくとも連続 300 万サイクルの歩行負荷をかけても残存すること、が明らかになった。また、今回の検討では金属骨頭を使用しているが、セラミックス骨頭を使うことで、さらに摩耗抑制効果が期待できるという知見を得

ている。

IV. 摩耗粉が骨吸収に与える影響の評価

シミュレーター試験の潤滑液から摩耗粉を抽出すると、MPC-CLPE、未処理 CLPE とも、摩耗粉の 95% 以上はサブミクロンのサイズであり、摩耗粉の粒径分布・形状に明らかな差はみられなかった。そこで、平均粒径約 500 nm の MPC ナノ微粒子を作製し、*in vitro/vivo* particle-induced mouse osteolysis model に用いて MPC 微小摩耗粉が骨吸収に与える影響を検討した¹⁸⁾。

1. *In vitro* particle-induced mouse osteolysis model

まず、微粒子を蛍光物質で標識し、マウス腹腔内 MΦ 培養系に曝露して貪食実験を行った。この結果、未処理の微粒子は MΦ に大量に貪食されたが、MPC 処理微粒子は MΦ に異物として認識されず、ほとんど貪食を受けなかった。

ついで、MPC 微粒子あるいは未処理微粒子をマウス MΦ 様細胞株・J 774.1 細胞に曝露して 24 時間後に培養上清を回収し、conditioned medium として以下の実験に用いた。まず conditioned medium 中の骨吸収を誘導する液性因子濃度（TNF- α 、IL-1、IL-6、PGE₂）を測定すると、すべての因子において、未処理微粒子曝露群の濃度は溶液のみを加えたコントロール群と比べ 4~20 倍高値を示したが、MPC 処理粒子曝露群ではこれらの濃度上昇がみられず、コントロール群と有意な差がみられなかった（図 4 A）。つぎに conditioned medium をマウス骨芽細胞培養系に添加して RANKL の mRNA の発現を検討すると、未処理微粒子曝露群では RANKL の発現を強力に誘導したが、MPC 処理微粒子曝露群では誘導されなかった。さらに conditioned medium をマウス骨髓細胞と骨芽細胞の共存培養系に添加して破骨細胞形成を調べると、未処理群では溶液のみを加えたコントロール群に比し 7 倍の破骨細胞が形成されたが、MPC 処理微粒子曝露群ではコントロール群と有意な差がみられなかった。未処理群による破骨細胞形成・活性化は、TNF- α 、IL-1、IL-6 それぞれの抗体、cyclooxygenase-2 阻害剤、

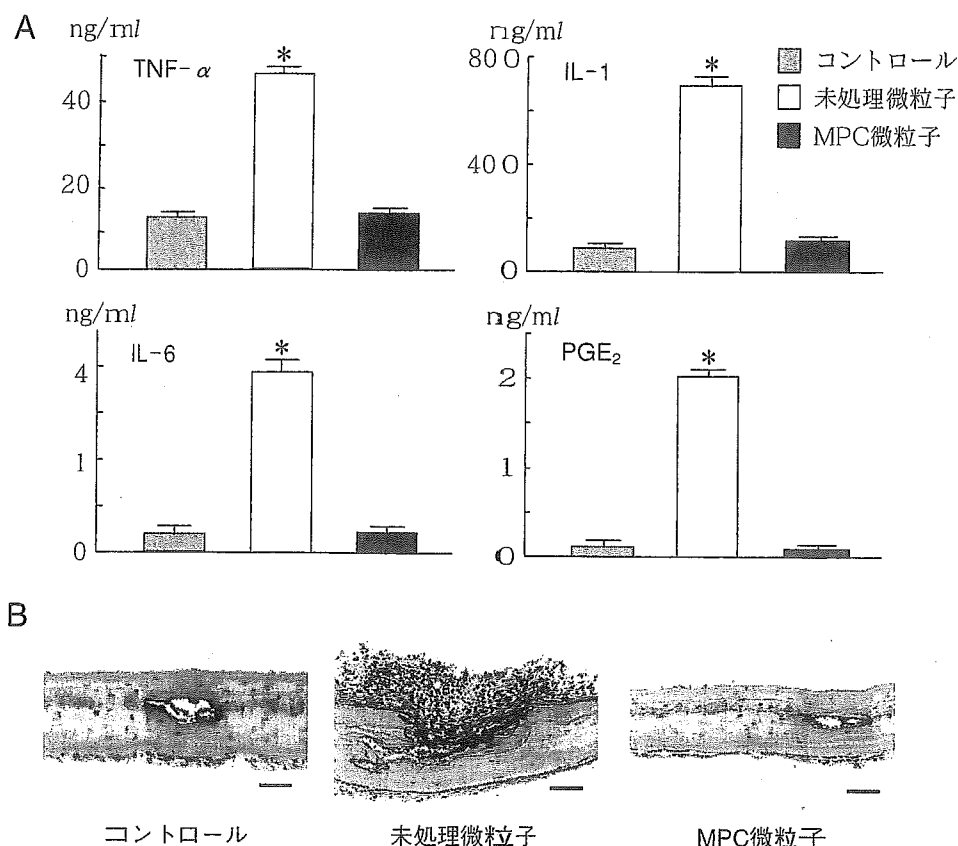


図 4 *In vitro/vivo* particle-induced mouse osteolysis model の結果
〔文献 15〕を一部改変〕

- A** 骨吸収を誘導する液性因子濃度。未処理微粒子曝露群の濃度は、溶液のみを加えたコントロール群と比べ、4~20 倍高値を示したが、MPC 処理粒子曝露群ではこれらの濃度上昇がみられず、コントロール群と有意な差がみられなかった。
- B** *In vivo* osteolysis model。未処理微粒子を移植した群では骨吸収が強力に誘導されたが、MPC 微粒子を曝露した群ではこれらが誘導されなかった。

破骨細胞形成抑制因子 (osteoprotegerin ; OPG) の添加により抑制されたが、これらの抑制効果は微粒子のナノ MPC 処理による抑制効果と有意な差がみられなかった。

2. *In vivo* particle-induced mouse osteolysis model

マウス頭蓋骨上に MPC 微粒子あるいは未処理微粒子を移植し、7 日後に頭蓋骨を採取、これを固定・脱灰した後、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (tartrate-resistant acid phosphatase ; TRAP) で染色を行った。顕微鏡にて標本を観察すると、未処理微粒子を移植した群では TRAP 染色陽性の破骨細胞が形成され、骨吸収が強力に誘導され

たが、MPC 微粒子を曝露した群ではこれらが誘導されなかった (図 4 B)。

以上の *in vitro/vivo* particle-induced mouse osteolysis model を用いた検討により、MPC のナノ微小粉は MΦ の貪食を受けず、破骨細胞の形成・活性化、骨吸収を誘導しないことが明らかになった。

おわりに

これらの研究成果により、人工股関節摺動面の MPC 処理は、弛みの主因となる PE 摩耗粉の産生を著減させること、仮に摩耗粉を生じて骨吸収を誘導しないこと、が明らかになり、従来の人

工股関節における課題が同時に解決できることが示された。また、最近では研究を重ねて MPC ポリマー処理方法を改善し、連続 1,000 万サイクル以上の歩行負荷をかけても著明な摩耗抑制効果がみられ、その処理効果も維持されるという結果を得ている。さらに、臨床応用を考えた場合、MPC ポリマーで表面処理したステント、カテーテル等の医用材料の臨床応用によって、生体内での安全性が確立されていることは利点である。本研究は、人工股関節の寿命を飛躍的に延長する長寿命型の人工股関節の開発につながり、手術の適応になり難かった若年の症例でも人工股関節手術を選択肢に加えられるなど、治療方法の選択を変える可能性を秘めている。こうした画期的な新技術として、現在臨床試験の準備を進めている。

文 献

- 1) Jacobs JJ et al : Osteolysis ; basic science. Clin Orthop **393** : 71—77, 2001
- 2) Mahomed NN et al : Rates and outcomes of primary and revision total hip replacement in the United States medicare population. J Bone Joint Surg **85-A** : 27—32, 2003
- 3) Livingston BJ et al : Complications of total hip arthroplasty associated with the use of an acetabular component with a Hylamer liner. J Bone Joint Surg **79-A** : 1529—1538, 1997
- 4) McKellop H et al : Wear of gamma-crosslinked polyethylene acetabular cups against roughened femoral balls. Clin Orthop **369** : 73—82, 1999
- 5) Black J : Metal on metal bearings ; a practical alternative to metal on polyethylene total joints? Clin Orthop **329** : S 244—255, 1996
- 6) Callaway GH et al : Fracture of the femoral head after ceramic-on-polyethylene total hip arthroplasty. J Arthroplasty **10** : 855—859, 1995
- 7) Childs LM et al : In vivo RANK signaling blockade using the receptor activator of NF-kappaB ; Fc effectively prevents and ameliorates wear debris-induced osteolysis via osteoclast depletion without inhibiting osteogenesis. J Bone Miner Res **17** : 192—199, 2002
- 8) Goater JJ et al : Efficacy of ex vivo OPG gene therapy in preventing wear debris induced osteolysis. J Orthop Res **20** : 169—173, 2002
- 9) Kirk TB et al : The morphology and composition of the superficial zone of mammalian articular cartilage. J Orthop Rheumatol **6** : 21—28, 1993
- 10) Ishihara K et al : Preparation of phospholipid polymers and their properties as polymer hydrogel membrane. Polym J **22** : 355—360, 1990
- 11) Ishihara K et al : Why do phospholipid polymers reduce protein adsorption? J Biomed Mater Res **39** : 323—330, 1998
- 12) Ishihara K et al : Improvement of blood compatibility on cellulose dialysis membrane ; III. Synthesis and performance of water-soluble cellulose grafted with phospholipid polymer as coating material on cellulose dialysis membrane. J Biomed Mater Res **29** : 181—188, 1995
- 13) Kihara S et al : In vivo evaluation of a MPC polymer coated continuous flow left ventricular assist system. Artif Organs **27** : 188—192, 2003
- 14) Lewis AL et al : Analysis of a phosphorylcholine-based polymer coating on a coronary stent pre- and post-implantation. Biomaterials **23** : 1697—1706, 2002
- 15) Moro T et al : Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. Nat Mater **3** : 829—836, 2004
- 16) Ishihara K et al : Photoinduced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on polyethylene membrane surface for obtaining blood cell adhesion resistance. Colloids Surf B Biointerfaces **18** : 325—335, 2000
- 17) Foy JR et al : Effect of phospholipidic boundary lubrication in rigid and compliant hemiarthroplasty models. Proc Inst Mech Eng [H] **213** : 5—18, 1999
- 18) Konno T et al : Preparation of nanoparticles composed with bioinspired 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer. Biomaterials **22** : 1883—1889, 2001

関節面のナノ表面処理による人工股関節の弛みの阻止

茂呂 徹 高取吉雄 中村耕三 川口 浩

臨床雑誌『整形外科』56 巻・2 号（2 月号，第 656 冊）〔2005 年 2 月 1 日〕・別 刷

南 江 堂

関節面のナノ表面処理による人工股関節の弛みの阻止

人工股関節手術後に生じる弛み (loosening) は、その長期成績を決定する最大かつ深刻な合併症であるが、現在までに有効な解決策は得られていない。弛みは、関節面から生じるポリエチレン (PE) の摩耗粉をマクロファージ (MΦ) が貪食して惹起される人工関節周囲の骨吸収が主因である。われわれは摩耗粉の産生を抑制し、かつ摩耗粉による骨吸収の誘導を阻止すればこの問題を解決できると考えた。生体の関節軟骨表面にはナノスケールのリン脂質層が存在し潤滑機構の改善に寄与している。そこでわれわれは、生体適合性リン脂質ポリマー・2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) ポリマーを PE ライナー表面にナノスケール (約 100 nm) で光学的にグラフトする方法 (MPC 処理) を創案した。MPC ポリマーは、生体細胞膜と同様にホスホリルコリン基を有するため、生体内で異物としての認識を受けず、優れた生体適合性を発揮する。われわれは今回、耐摩耗性と摩耗粉が骨吸収に与える影響の観点から、MPC 処理によって人工関節の長寿命化を期待できる知見を得た。

耐摩耗性の評価は、連続 300 万歩分の股関節シミュレータを用いて行った。骨頭には CoCrMo 合金骨頭を用いた。ライナーは架橋 PE (CLPE) 表面を MPC ポリマー処理したもの (MPC-CLPE) を使い、PE および未処理の CLPE と比較した。まず摺動面の摩擦トルクを計測すると、MPC-CLPE のトルクは未処理群の約 1/10 と改善していた。次に、ライナーの摩耗量を重量変化で計測すると、MPC-CLPE の摩耗量は PE の 1/40、CLPE の 1/4 であった。試験終了時のライナーの三次元解析でも MPC-CLPE はほとんど摩耗しておらず、また、X 線光電子分光分析装置 (XPS)、電界放射型透過電子顕微鏡 (FE-TEM) による表面解析でも、MPC ポリマー処理効果は持続していた。

摩耗粉が骨吸収に与える影響は、MPC 処理した

径 500 nm の微粒子を *in vitro/vivo* のマウス骨吸収モデルに用いて評価した。まず微粒子をマウス MΦ 培養系に曝露し、培養上清中の TNF- α 、IL-1、IL-6、PGE₂ 濃度を測定したところ、MPC 微粒子は貪食されず、液性因子濃度は未処理微粒子曝露群の 1/4~1/20 に抑制されていた。さらにこの培養上清を骨芽細胞培養系に添加して receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) の mRNA の発現を、そしてマウス骨髓細胞と骨芽細胞の共存培養系に添加して破骨細胞形成を調べた。未処理群では RANKL の発現・破骨細胞形成とも誘導したのに対し、MPC 群ではこれらを誘導しなかった。次に、マウス頭蓋骨上に微粒子を移植し、7 日後に骨吸収の有無を判定した。骨吸収は、未処理群では強力に誘導されたが、MPC 群では誘導されなかった。

以上の研究成果により人工関節摺動面の MPC 処理は、弛みの主因となる PE 摩耗粉の産生を著減させること、仮に摩耗粉を生じても骨吸収を誘導しないことが明らかになった。最近では MPC ポリマー処理の方法を改善し、連続 1,000 万歩分の歩行負荷をかけても著明な摩耗抑制効果がみられるという結果を得ている。MPC ポリマーで表面処理したステント、人工肺などの医用材料はすでに認可を受け臨床応用されており、生体内での安全性は確立されている。以上の結果は、人工関節摺動面の MPC 処理が人工股関節の弛みを阻止する画期的な新技術となる可能性を強く示唆しており、現在臨床試験の準備をすすめている。

文 献

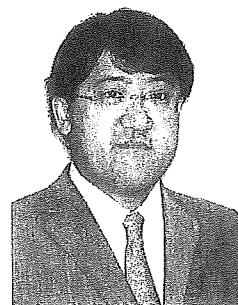
- 1) Moro T, Takatori Y, Ishihara K et al : Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. *Nat Mater* 3 : 829-836, 2004
(東京大学整形外科・茂呂 徹, 高取 吉雄, 中村 耕三, 川口 浩)

人工関節

茂呂 徹^{*1}, 高取 吉雄^{*2}

^{*1}東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター

^{*2}東京大学医学部整形外科教室



茂呂 徹(もろ とおる)

1992年東京大学医学部整形外科教室入局。1998年東京大学医学部附属病院整形外科助手。2004年東京大学大学院医学系研究科外科学専攻修了(医学博士)。2004年東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 医療ナノテクノロジー人材養成ユニット 特任教員, 現在に至る。日本整形外科学会専門医, 日本整形外科学会認定リウマチ医, 日本整形外科学会スポーツ医, 日本整形外科学会脊椎脊髓医, 日本医師会健康スポーツ医。専門: 整形外科, 生体材料学, 分子生物学。

1. はじめに

人工関節手術は、外傷・変形性関節症・関節リウマチなどの疾患で機能を喪失した関節を高分子材料・金属・セラミックスなどで構成される人工関節に置き換える手術である。現在行われている人工関節手術のほとんどが股関節・膝関節の手術であるが、この他に肘関節・肩関節・足関節・指関節などの人工関節も実用化されており、関節の可動域の改善と除痛をほぼ確実に獲得できる優れた手術として、先進国においては年間1人/1,000人前後の手術が行われている。人工関節手術は、これまでに材料、デザイン、手術手技、術後管理などの面で様々な改良がなされ、少なくとも手術後10～15年という期間での臨床成績は安定してきている。しかしながら手術後に人工関節のインプラント周囲に生じる骨吸収(osteolysis)とこれに続発する弛み(loosening)は、今なお根本的な解決策が得られておらず、人工関節の長期予後を決する深刻な合併症である¹⁾。弛みを生じた人工関節は加速的に周囲の骨を吸収し、疼痛や可動域制限を生じ、再置換手術が必要となる。

材料や技術の進歩により、人工関節手術自体は標準化された手術であるが、再置換手術は、骨吸収部に対する補填方法、人工関節の固定方法等、術者の技術によるところが多く、難しい手術である。また、人工関節手術を受けた患者は潜在的な再置換手術の対象であり、人口の高齢化に伴い手術件数が飛躍的に増加する可能性がある。さらに、特にわが国においては、将来の再置換手術回数をなるべく減らすため基本的に人工関節手術の適応が中高年以降となることが多く、若年者には骨切り術などの別の手術方法が選択されることが多いが、実際の臨床場においては人工関節手術以外では

治療しえない末期の関節症の若年患者も少なくなく²⁾、治療に難渋することも多い。したがって、人工関節の弛みを阻止し寿命を延長することは重要な課題である。

弛みは、人工関節の関節面を構成する超高分子量ポリエチレン(ultra high molecular weight polyethylene, UPMWPE, 以下PE)の摩耗粉が主因となる“particle disease”であることが諸家によって明らかにされている³⁾。この摩耗粉はマクロファージ(Mφ)に貪食され、Mφはtumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), IL-6などのサイトカインやプロスタグランジンE₂ (PGE₂)を分泌する。これらの生体活性物質は周囲の間葉系細胞に作用し、破骨細胞分化因子であるreceptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)の発現を誘導する。その結果、破骨細胞の形成・活性が促進されて人工関節周囲に骨吸収を生じ、弛みに至る⁴⁾。したがって、人工関節の弛みの阻止のために、PEの摩耗粉を減少させること、あるいは摩耗粉による骨吸収の誘導を抑制することを目指した様々な研究が行われている。本稿では、これらの中で近年注目を集め、臨床試験あるいは実用化に近い技術を中心に紹介する。

2. 表面置換型人工股関節

PEの摩耗粉の量を抑制する目的で、PEを用いない人工関節の開発あるいはPEの改質が行われてきた。PEを用いない人工関節としては金属対金属、セラミックス対セラミックスの関節面を持つ人工関節が実用化されている。

金属対金属の関節摺動面を持つ人工股関節としては、近年、英国のMcMinnらが考案した表面置換型の人工股関節の使用数が欧州で急増している⁵⁾⁶⁾。これは従来のおもむきで大腿骨頭を含め大きく関節面の骨切除を行う手術と異なり、関節表面の骨

だけを削って金属に置換するものである。この人工股関節の利点としては、①骨切除量が少ないため、骨を温存することができ、将来の再置換術が容易である、②従来骨頭の大径化は摩耗に不利とされたが、金属対金属の組み合わせでは摩耗を顕著に抑制させることができるため大径化が可能であり、脱臼の防止が期待できる、ということがある。一方、関節の変形が高度な症例では適用できないという短所を有する。また、体内への金属イオンの溶出による発癌性への懸念も、現時点では疫学的に有意差はみられていないものの、今なお議論の続いているところである^{7)~9)}。以上の特質により、わが国においても若年に対する人工股関節として選択されており、近年良好な短期成績も報告され始めている。これらの流れはこれまで金属対金属の人工股関節の導入に慎重であった米国にも波及しており、1999年に米食品医薬局(FDA)の承認を受け、数多くのインプラントメーカーがIDE(Investigational Device Exemption)を行っている。2005年9月には初めての諮問委員会が開催され、委員会はFDAに対しPMA(Premarket Approval)承認を与えることを勧告した。

3. セラミックス対金属の関節摺動面を持つ人工股関節

金属対金属の人工股関節では、使用初期から馴染むまでの摩耗、いわゆる“bedding-in wear”が問題点となる。この初期摩耗についてSieberらは、術後1年の摩耗量は術後3年目以降の年間摩耗量の約5倍であると報告している¹⁰⁾。この問題の解決のため、Fisherらは骨頭にアルミナ、白蓋コンポーネントに金属を用いた、セラミックス対金属の人工股関節を開発した¹¹⁾。股関節シミュレーター試験におけるこの人工股関節の摩耗量は、金属対金属の人工股関節の摩耗量の約1/100であり、“bedding-in wear”も顕著に抑制されたと報告している。この人工股関節は、まもなく臨床試験が開始される予定である。

4. クロスリンクポリエチレン

PEを改質して摩耗粉の量を抑制する試みも行われている。大西らは100 Mradという高線量の γ 線照射をすることでPEの非結晶部分の架橋(crosslink)を増加させたクロスリンクポリエチレン(CLPE)を開発した。大西らは基礎実験で優れた摩耗抑制効果を報告するとともに、臨床的にも1970年代から人工股関節の関節摺動面に使用して優れた長期成績を報告している¹²⁾。大西らの研究成果により各社が積極的な研究開発を行い、現在では5~10 Mrad程度の γ 線を照射したCLPEが人工股関節の関節摺動面に実用化されており、短期~中期の臨床成績も報告され始めている^{13)~15)}。

一方、人工膝関節の関節摺動面におけるCLPEの有効性は

今なお議論の分かれるところであり^{16),17)}、この分野への応用は積極的には進んでいない。また、通常のPEの場合と比較して、架橋により体積摩耗量は減少するものの、弛みの主因となるsubmicron sizeの摩耗粉の割合が大きくなることから、摩耗粉自体の骨吸収誘導能への影響を危惧する報告も近年行われており、体積摩耗量のみならず、摩耗粉の量、粒径分布、形状等を総合的に検討していく必要がある^{18),19)}。

5. 生体適合性リン脂質ポリマーの関節摺動面のナノ表面処理

生体の関節軟骨表面にはナノスケールのリン脂質層が存在し、少なくとも数十年にわたり関節表面の保護と潤滑機構の改善に寄与している^{20),21)}。そこで筆者らは、人工関節摺動面のPE表面を生体適合性の高いリン脂質で覆うことができれば、PE摩耗粉産生の抑制と摩耗粉による骨吸収の誘導の阻止を同時に達成でき、弛みの問題を解決できると考えた。そして、生体適合性リン脂質ポリマー・2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine(MPC)ポリマーをPEライナー表面にナノスケール(約100~150 nm)で光学的にグラフトする方法(MPC処理)を創案した^{22)~24)}。

MPCポリマーは、生体細胞膜と同様ホスホリルコリン基を有するため、生体内で異物としての認識を受けず、優れた生体適合性を発揮する^{25),26)}。この特性を活かし、様々な医療材料への応用研究が進められており、その一部はすでに認可を受け臨床応用されており、生体内での安全性は確立されている^{27),28)}。筆者らは、耐摩耗性と摩耗粉が骨吸収に与える影響の観点から、MPC処理の弛みの阻止効果を検討してきた^{29),30)}。

耐摩耗性の評価は、手術後の歩行を再現する股関節シミュレーター試験で行った。まず摺動面の摩擦トルクを計測すると、MPC処理により未処理群の10%まで改善していた。また、20年分以上の歩行負荷をかけても、重量変化・三次元解析・走査電子顕微鏡(SEIM)による表面観察においてMPC処理群の摩耗量は著明に抑制されていた。さらに試験終了後のライナー表面をX線光電子分光分析装置(XPS)で解析すると、MPCユニットの窒素、リンのスペクトルを同定することができ、MPC処理効果は残存していた^{31),32)}。

摩耗粉が骨吸収に与える影響は、MPC処理した微粒子を*in vitro/vivo* mouse particle-induced osteolysis modelに用いて評価した。まず微粒子をマウスM ϕ 培養系に曝露し、貪食の有無を検討すると、MPCポリマーは生体内で異物としての認識を受けないため、MPC処理した微粒子は貪食されなかった。またこれらの培養上清中の骨吸収を誘導する液性因子濃度(TNF- α , IL-1, IL-6, PGE₂)を測定すると、すべての因子に

において未処理微粒子曝露群の濃度は、溶液のみを加えたコントロール群と比べ、4〜46倍高値を示したが、MPC処理微粒子曝露群ではこれらの濃度上昇が見られず、コントロール群と有意な差が見られなかった。さらにこの上清をマウス骨芽細胞培養系に添加してRANKLのmRNAの発現を、マウス骨髓細胞と骨芽細胞の共存培養系に添加して破骨細胞の形成を観察したところ、未処理微粒子曝露群ではRANKLの発現、破骨細胞の形成とも強力に誘導したが、MPC処理微粒子曝露群では誘導されなかった。次にマウス頭蓋骨上に微粒子を移植して骨吸収の有無を判定したところ、未処理微粒子移植群では酒石酸耐性酸性ホスファターゼ(TRAP)染色陽性の破骨細胞が形成され、骨吸収が強力に誘導されたが、MPC微粒子移植群ではこれらが誘導されなかった²⁴⁾。

以上の研究開発により人工関節摺動面のMPC処理は、弛みの主因となるPE摩耗粉の産生を著減させ、その効果は長期の歩行負荷をかけても継続すること、仮に摩耗粉を生じても骨吸収を誘導しないこと、が明らかとなり、人工股関節の弛みを阻止する独創的な新技術であることが示された。現在臨床試験の準備を進めているとともに、同技術の人工膝関節への応用を目指し、基礎検討を行っている。

6. アルカリ加熱処理を施した チタンセメントレス人工股関節

人工股関節の長期成績を安定させるためには、インプラントと周囲骨との固定性を早期に確保することも重要な要素である。中村らはアルカリ加熱処理したチタンセメントレス人工股関節の開発に成功した。チタン合金製の人工股関節をNaOH水溶液に24時間程度浸漬した後600℃の熱処理を加え、これを生体内や疑似体液(SBF)中におくとチタン金属表面にアパタイトが析出し始め、最終的に表面全体が均一な微小薄膜のアパタイト層に覆われる³³⁾。このアパタイトは人工的に合成されたアパタイトと異なり骨類似のアパタイトであり、骨と速やかに結合する。この現象により、人工股関節を早期に強固に固定することができ長期成績の安定化が期待できる。また、特に高齢者においては手術から離床・歩行訓練までの期間を短縮することが可能となり、寝たきりの防止、歩行能力の回復など、よりよいADL(activities of daily living)、QOL(quality of life)の獲得も期待できる。さらに、従来のアパタイトコーティングと比べ熱変性がなく、またアパタイト粒子の脱落がないため、third body wearの心配がない。この技術は*in vitro/vivo*の研究開発の後^{34),35)}、2000年から2003年まで臨床試験が行われ、その固定性について良好な成績を獲得した³⁶⁾。近く実用化が見込まれる。

7. レジストレーションシステム

わが国では年間13万件以上の人工関節手術が行われており、優れた臨床成績が報告されている。しかしながら、人工関節には年々、様々な改良が加えられているため、実際に使用されている人工関節は長期的な臨床成績の検討が不十分な新しい人工関節であることが少なくない。例えば人工股関節のPEライナーについては、5〜10 Mrad程度のγ線を照射したCLPEが90%以上の症例で用いられている。しかし、股関節シミュレーター試験の結果からは優れた摩耗抑制効果が期待できるものの、臨床的には術後数年という短期〜中期の成績が報告されているにすぎず、臨床的なエビデンスが十分であるとは言えない。このため、様々なインプラントに関して合併症の発生率や耐用性に関し前向き調査体制を確立し、医師にこれらの情報をフィードバックすることは術後の合併症や再置換手術を回避するために極めて重要である。

こうした、National Registryの動きは北欧を中心に拡大しており、スウェーデン、フィンランド、デンマーク、カナダ、オーストラリア、ニュージーランドなどの諸国で実施されている^{37)~42)}。わが国ではこの体制の整備において立ち遅れていたが、日本整形外科学会のインプラント委員会を中心に全国的な人工膝及び股関節登録体制の確立へ向けた準備が進んでおり、まず日本整形外科学会の研修指定病院から選抜された約50施設で試行される予定である。この制度を1979年に確立したスウェーデンにおいては、臨床的に良好な成績をおさめた数種類の人工股関節の使用比率が70%を超えており、人工関節の再置換の頻度が減少している。わが国においても、長期成績の安定化が期待できる。

8. おわりに

以上のように、本稿で紹介できなかったものも含め、人工関節の長寿命化のために様々な研究開発がマテリアルの視点から行われている。一方、整形外科医の観点からも、適当な手術を行うための術前の評価方法、手術手技、術後管理合併症の対策など様々な研究が行われている。これらの技により、生涯入れ換える必要のない人工関節が開発されることを期待している。そのためには医学・工学・産業・官がこれまで以上に連携を強めていくことが肝要と考える。

謝 辞

本稿で紹介した筆者らの研究の一部は、日本人工臓器学のJSAO-Grantにより行われました。深謝申し上げます。

文献

- 1) Harris WH: Wear and periprosthetic osteolysis: the problem. *Clin Orthop* **393**: 66-70, 2001
- 2) 茂呂 徹, 高取吉雄, 金井宏幸, 他:【人工関節によらない末期変形性股関節症の治療】寛骨臼回転骨切り術. 整形・災害外科(O387-4095) **44**: 637-42, 2001
- 3) Goodman SB, Chin RC, Chioi SS, et al: A clinical-pathologic-biochemical study of the membrane surrounding loosened and nonloosened total hip arthroplasties. *Clin Orthop* **244**: 182-7, 1989
- 4) Jacobs JJ, Roebuck KA, Archibeck M, et al: Osteolysis: basic science. *Clin Orthop Relat Res* **393**: 71-7, 2001
- 5) McMinin D, Treacy R, Lin K, et al: Metal on metal surface replacement of the hip. Experience of the McMinin prothesis. *Clin Orthop Relat Res* **329**: 89-98, 1996
- 6) Daniel J, Pynsent PB, McMinin DJ: Metal-on-metal resurfacing of the hip in patients under the age of 55 years with osteoarthritis. *J Bone Joint Surg Br* **86**: 177-84, 2004
- 7) Visuri T, Pukkala E, Paavolainen P, et al: Cancer risk after metal on metal and polyethylene on metal total hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* **329**: 280-9, 1996
- 8) Nyren O, McLaughlin JK, Gridley G, et al: Cancer risk after hip replacement with metal implants: a population-based cohort study in Sweden. *J Natl Cancer Inst* **87**: 28-33, 1995
- 9) Gillespie WJ, Frampton CM, Henderson RJ, et al: The incidence of cancer following total hip replacement. *J Bone Joint Surg Br* **70**: 539-42, 1988
- 10) Sieber HP, Rieker CB, Kottig P: Analysis of 118 second-generation metal-on-metal retrieved hip implants. *J Bone Joint Surg Br* **81**: 46-50, 1999
- 11) Firkins PJ, Tipper JL, Ingham E, et al: A novel low wearing differential hardness, ceramic-on-metal hip joint prosthesis. *J Biomech* **34**: 1291-8, 2001
- 12) Oonishi H, Kadoya Y, Masuda S: Gamma-irradiated cross-linked polyethylene in total hip replacements-analysis of retrieved sockets after long-term implantation. *J Biomed Mater Res* **58**: 167-71, 2001
- 13) Digas G: New polymer materials in total hip arthroplasty. Evaluation with radiostereometry, bone densitometry, radiography and clinical parameters. *Acta Orthop Suppl* **76**: 3-82, 2005
- 14) Martell JM, Verner JJ, Incavo SJ: Clinical performance of a highly cross-linked polyethylene at two years in total hip arthroplasty: a randomized prospective trial. *J Arthroplasty* **18**: 55-9, 2003
- 15) Dorr LD, Wan Z, Shahrardar C, et al: Clinical performance of a Durasul highly cross-linked polyethylene acetabular liner for total hip arthroplasty at five years. *J Bone Joint Surg Am* **87**: 1816-21, 2005
- 16) Jasty M, Rubash HE, Muratoglu O: Highly cross-linked polyethylene: the debate is over-in the affirmative. *J Arthroplasty* **20**: 55-8, 2005
- 17) Ries MD: Highly cross-linked polyethylene: the debate is over-in opposition. *J Arthroplasty* **20**: 59-62, 2005
- 18) Galvin AL, Tipper JL, Ingham E, et al: Nanometre size wear debris generated from crosslinked and non-crosslinked ultra high molecular weight polyethylene in artificial joints. *Wear* **259**: 977-83, 2005
- 19) Ingram JH, Stone M, Fisher J, et al: The influence of molecular weight, crosslinking and counterface roughness on TNF-alpha production by macrophages in response to ultra high molecular weight polyethylene particles. *Biomaterials* **25**: 3511-22, 2004
- 20) Hills BA, Butler BD: Surfactants identified in synovial fluid and their ability to act as boundary lubricants. *Ann Rheum Dis* **43**: 641-8, 1984
- 21) Kirk TB, Wilson AS, Stachowiak GW: The morphology and composition of the superficial zone of mammalian articular cartilage. *J Orthop Rheumatol* **6**: 21-8, 1993
- 22) Ishihara K, Ueda T, Nakabayashi N: Preparation of phospholipid polymers and their properties as polymer hydrogel membrane. *Polym J* **22**: 355-60, 1990
- 23) Ishihara K, Iwasaki Y, Ebihara S, et al: Photoinduced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on polyethylene membrane surface for obtaining blood cell adhesion resistance. *Colloids Surf B Biointerfaces* **18**: 325-35, 2000
- 24) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, et al: Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. *Nat Mater* **3**: 829-36, 2004
- 25) Ishihara K, Miyazaki H, Kurosaki T, et al: Improvement of blood compatibility on cellulose dialysis membrane. III. Synthesis and performance of water-soluble cellulose grafted with phospholipid polymer as coating material on cellulose dialysis membrane. *J Biomed Mater Res* **29**: 181-8, 1995
- 26) Ishihara K, Nomura H, Mihara T, et al: Why do phospholipid polymers reduce protein adsorption? *J Biomed Mater Res* **39**: 323-30, 1998
- 27) Kihara S, Yamazaki K, Litwak K, et al: In vivo evaluation of a MPC polymer coated continuous flow left ventricular assist system. *Artif Organs* **27**: 188-92, 2003
- 28) Lewis AL, Tolhurst LA, Stratford PW: Analysis of a phosphorylcholine-based polymer coating on a coronary stent pre-and post-implantation. *Biomaterials* **23**: 1697-706, 2002
- 29) 茂呂 徹: 人工関節～新素材採用で長寿命化に成功. 治療 **87**: 1642-5, 2005
- 30) 茂呂 徹: ナノ表面制御による新しい人工股関節の開発. リウマチ科 **33**: 639-45, 2005
- 31) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, et al: New biocompatible and wear-resistant articulating surface of artificial joints for preventing aseptic loosening. *Proceedings of 51st Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society* 2005, 408.
- 32) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, et al: Biocompatible polymer grafting inhibits loosening of artificial joint based on macrophage activation. *Proceedings of 72nd Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons* 2005, 318.
- 33) Kokubo T, Miyaji F, Kim HM, et al: Spontaneous formation of bonelike apatite layer on chemically treated titanium metals. *Journal of the American Ceramic Society* **79**: 1127-9, 1996
- 34) Nishiguchi S, Nakamura T, Kobayashi M, et al: The effect of heat treatment on bone-bonding ability of alkali-treated titanium. *Biomaterials* **20**: 491-500, 1999
- 35) Nishiguchi S, Fujibayashi S, Kim HM, et al: Biology of alkali- and heat-treated titanium implants. *J Biomed Mater Res A* **67**: 26-35, 2003
- 36) 中村孝志, 川那辺圭一, 田村治郎, 他: アルカリ加熱処理を施したチタンセメントレス人工股関節の治療成績. 新医療

機器研究 9: 59-67, 2004

- 37) Malchau H, Herberts P, Eisler T, et al: The Swedish Total Hip Replacement Register. J Bone Joint Surg Am **84**: 2-20, 2002
- 38) Ostendorf M, Johnell O, Malchau H, et al: The epidemiology of total hip replacement in The Netherlands and Sweden: present status and future needs. Acta Orthop Scand **73**: 282-6, 2002
- 39) Puolakka TJ, Pajamaki KJ, Halonen PJ, et al: The Finnish Arthroplasty Register: report of the hip register. Acta Orthop Scand **72**: 433-41, 2001
- 40) Smabrekke A, Espehaug B, Havelin LI, et al: Operating time and survival of primary total hip replacements: analysis of 31, 745 primary cemented and uncemented tal hip replacements from local hospitals reported to the Norwegian Arthroplasty Register 1987-2001. Acta Orthop Scand **75**: 524-32, 2004
- 41) Havelin LI, Engesaeter LB, Espehaug B, et al: The Norwegian Arthroplasty Register: 11 years and 73,000 arthroplasties. Acta Orthop Scand 2000, **71**: 337-53.
- 42) Espehaug B, Furnes O, Havelin LI, et al: The type of cement and failure of total hip replacements. J Bone Joint Surg Br **84**: 832-8, 2002

バイオマテリアル 24 (2) in press

平成 17 年度 日本バイオマテリアル科学奨励賞

ポリマーナノグラフト表面構築を基盤とした耐摩耗人工股関節の創製

Development of artificial hip joints with excellent anti-wear property
based on polymer grafting in nano-scale

茂呂徹

サマリー

人工股関節の最大の合併症である弛みを阻止するため、生体の関節軟骨表面の構造に着目し、潤滑性と生体適合性に優れた MPC ポリマーでナノ表面処理した耐摩耗人工股関節を創製した。摩耗の抑制効果、摩耗粉が骨吸収に与える影響を検討したところ、MPC ポリマーでナノ表面処理した人工股関節摺動面が弛みの主因となるポリエチレンの摩耗粉の産生を抑制すること、その処理効果は長期の歩行負荷をかけても持続すること、MPC の微小摩耗粉は骨吸収を誘導しないこと、が明らかとなった。人工股関節の寿命を延長する新技術として、臨床試験の準備を進めている。

To elongate the survival time of artificial hip joints, we grafted a novel biocompatible polymer, 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC), on the surface of polyethylene liners and investigated the mechanical and biological effects. MPC grafting markedly decreased wear production in the hip simulator study. Additionally, MPC particles did not induce osteoclastogenesis in the murine osteolysis model. From mechanical and biological advantages, we believe that MPC grafting should improve the longevity of artificial hip joints by preventing aseptic loosening. We are now designing a clinical trial.

人工股関節置換術は、変形性股関節症・関節リウマチ・特発性大腿骨頭壊死症・外傷などで機能を喪失した股関節を、高分子材料・金属・セラミックスで構成される人工股関節に置き換える手術である。疼痛を寛解し、よりよい ADL (activities of daily living) ・QOL (quality of life) を獲得する優れた治療法として確立されており、たとえばわが国では年間 7 万件以上の手術が行われている。1961 年に Charnley が発表した low friction arthroplasty が、骨盤側に超高分子量ポリエチレン (ultra high molecular weight polyethylene: PE) , 大腿骨側に金属あるいはセラミックス骨頭を用いるという現在の人工股関節の原型とされているが¹, 実用化から 40 年以上が経過し、材料・手術手技・術後管理・デザインなどの進歩により、その臨床成績は格段に改善されている²。しかしながら、インプラント周囲に生じる骨吸収 (osteolysis) と、これに続発する弛み (loosening) は常にその長期予後を決する深刻な合併症である³。弛みを生じたインプラントは固定性を失い、疼痛や可動域制限のため、再置換手術が必要となる (図 1)。したがって人工関節を受けた患者は再置換術の潜在的な対象であり、人口の高齢化が進むわが国においてはその件数は今後増加し続けると予想される。このため、人工関節の弛みを阻止し、その耐用年数 (寿命) を延長することは重要な課題である。

人工関節の弛みの機序と抑制のための研究

1. 弛みの機序

弛みの過程は、関節摺動面を構成する PE が骨頭との摩擦により摩耗し、微小摩耗粉を生じることから始まる。この摩耗粉はマクロファージ (MΦ) に貪食され、MΦ は tumor necrosis factor- α (TNF- α) , interleukin-1 (IL-1) , IL-6 などのサイトカインやプロスタグランジン E₂ (PGE₂) を分泌する。これらの生体活性物質は周囲の間葉系細胞に作用し、破骨細胞分化因子・receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) の発現を誘導する。その結果、破骨細胞の形成・活性化が促進され、人工股関節周囲に骨吸収を生じ、弛みに至る⁴。

したがって、これまでの弛み抑制のための研究は、PE の摩耗粉を減少させること、あるいは、摩耗粉による骨吸収の誘導を抑制すること、の 2 つの方向性で検討されてきた。摩耗粉を減少させる試みとしては PE の改質や PE を使わない人工股関節の開発などが、骨吸収を抑制する試みとしては抗サイトカイン抗体などを用いた薬物治療や遺伝子治療の研究などが行われきたが、摩耗と骨吸収のどちらかの抑制を目指した研究では決定的な解決策を得るには至っておらず、双方を同時にかなえる研究が求められている⁵。筆者らは、人工股関節摺動面の潤滑性を高め、かつ摩耗粉による細胞系の活性化を抑制すれば弛みを阻止できると考え、理想的なインターフェイスとして生体の関節軟骨の表面構造に

着目した。

2. 生体の関節軟骨表面の構造

生体の関節軟骨は、生涯にわたり荷重や運動の負荷を受け続けるにもかかわらず、少なくとも数十年にわたり関節面を保護し、その潤滑機構を改善するなど、優れた表面構造を構築するが、関節軟骨表面にナノスケールのリン脂質層が存在すること、この層が関節面の保護と潤滑機構の改善に寄与していることが、諸家により報告されている^{6,7}。したがって、生体適合性とリン脂質の構造を併せ持つポリマーで関節面を処理できれば、関節軟骨と同様の表面構造を構築でき、人工股関節の弛みの阻止に有効であると考え、生体適合性リン脂質ポリマーである 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) ポリマーに着目した。

人工股関節摺動面の MPC ポリマー処理

MPC ポリマーは、石原らが合成・開発した高分子材料である⁸。MPC ポリマーは生体細胞膜と同様、ホスホリルコリン基を有するため、生体内で異物として認識をうけず、優れた生体適合性を発揮する。また、生体との相互作用も抑制されるため、MPC ポリマー表面のタンパク吸着や血栓形成が抑制される⁹。さらに、MPC ポリマーは親水性であり、ポリマー表面の水の運動性制御が可能である。これらの優れた特性を活かし、医療分野への応用を目指した様々な研究開発が行われており、その一部はすでに認可を受け実用化されるなど、生体内の安全性は確立されている¹⁰。

筆者らは人工股関節の弛みの抑制のため、PE ライナー表面へ MPC ポリマーをグラフト重合させる手法を創案した (MPC ポリマー処理)^{11,12}。この処理は、紫外線を用いて、MPC ポリマー鎖と PE の炭素原子同士に安定な共有結合をさせるもので、表層のみの処理であり、基材である PE 自体には影響を及ぼさない。具体的には、光増感剤であるベンゾフェノンを経 PE ライナー上に吸着させ、これを MPC モノマー溶液に浸漬した。これに 350 nm 程度の紫外光を照射することにより、ベンゾフェノンを活性化し、水素引き抜き反応を誘起させた。これにより PE 表面にラジカルが生じて MPC の重合が進行し、MPC ポリマー鎖がグラフトされた。電界放射型透過電子顕微鏡 (Field Emission Transmission Electron Microscope: FE-TEM) による表面観察で、その処理厚みが約 100~200 nm と、ナノスケールであることが明らかになっている (図 2)¹³。筆者らは人工股関節の PE ライナー表面の MPC ポリマーによるナノ表面処理が弛みの阻止に与える影響を、耐摩耗性と摩耗粉が骨吸収に与える影響の観点から検討し、人工股関節の寿命を飛躍的に延長し得る知見を得た¹²。

耐摩耗特性の評価

まず、PE 表面を MPC ポリマー処理し、その潤滑特性を観察した。PE 表面は疎水性であり、表面の水の接触角を測定すると 85.0° であるが、親水性の MPC ポリマーで表面処理して接触角を測定すると 15.1° と、「水なじみ」が著明に改善した。また、摩擦係数も未処理群の約 $1/7$ に改善していた。

ついで、人工股関節手術を受けた関節により近い環境下での耐摩耗効果を観察するため、生体の歩行周期を再現する股関節シミュレーターを用いて連続 300 万サイクル(片足連続 300 万歩分)の試験を ISO 14242-1 の条件に準じて行った。骨頭には市販品のコバルトクロムモリブデン合金骨頭(径 22 mm)を用いた。ライナーは同じく市販品の架橋 PE (CLPE) 表面を MPC ポリマー処理したもの(MPC 群)を用い、通常の PE (PE 群)および未処理の CLPE (CLPE 群)と比較した。まず関節摺動面の摩擦トルクを測定すると、MPC 群のトルクは PE 群、CLPE 群の約 $1/10$ と改善していた。次にライナーの重量を 50 万サイクルごとに計測し、その摩耗量を検討すると、MPC 群の摩耗量は PE 群の $1/40$ 、CLPE 群の $1/4$ と著明に改善していた(図 3)。さらに試験終了後のライナー表面を三次元解析装置で解析すると、PE 群、CLPE 群では顕著な摩耗がみられたのに対し、MPC 群ではほとんど摩耗していなかった(図 4-a)。また、走査電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscopy: SEM)を用い、ライナー加工時に表面に形成される同心円状の研磨痕の有無を観察すると、PE 群、CLPE 群では消失しており顕著な摩耗がみられたのに対し、MPC 群では残存しており、ほとんど摩耗していなかった(図 4-b)。ライナー表面の MPC ポリマー処理効果の残存の有無を X 線光電子分光分析装置 (X-ray Photoelectron Spectroscopy: XPS)により検討すると、試験終了後の MPC 群のライナー表面に MPC ユニット特有のリン (P)・窒素 (N)のスペクトルが観察でき、MPC ポリマー処理層は残存していた。さらに、試験終了後の MPC 群のライナーを FE-TEM で解析しても、同様に MPC ポリマー処理層は残存していた。

摩耗粉が骨吸収に与える影響の評価

股関節シミュレーター試験の潤滑液から摩耗粉を抽出すると、MPC 群、CLPE 群とも、摩耗粉の 95%以上はサブミクロンのサイズであり、摩耗粉の粒径分布・形状に明らかな差は見られなかった(図 5)。そこで、平均粒径約 500 nm の MPC ナノ微粒子を作製し、*in vitro/vivo* のマウス骨吸収モデルに用いて MPC 微小摩耗粉が骨吸収に与える影響を検討した。

1. *in vitro* マウス骨吸収モデル

まず、微粒子を蛍光物質で標識し、マウス腹腔内 MΦ 培養系に曝露して貪食

実験を行った。この結果、未処理の微粒子はMΦに大量に貪食されたが、MPC処理微粒子はMΦに異物として認識されず、ほとんど貪食を受けなかった。

ついで、MPC微粒子あるいは未処理微粒子をマウスMΦ様細胞株・J774.1細胞に曝露して24時間後に培養上清を回収し、conditioned mediumとして以下の実験に用いた。まずconditioned medium中の骨吸収を誘導する液性因子濃度(TNF- α , IL-1, IL-6, PGE₂)を測定すると、すべての因子において未処理微粒子曝露群の濃度は、溶液のみを加えたコントロール群と比べ、4~46倍高値を示したが、MPC処理粒子曝露群ではこれらの濃度上昇が見られず、コントロール群と有意な差が見られなかった(図6)。つぎにconditioned mediumをマウス骨芽細胞培養系に添加してRANKLのmRNAの発現を検討すると、未処理微粒子曝露群ではRANKLの発現を強力に誘導したが、MPC処理微粒子曝露群では誘導されなかった。さらにconditioned mediumをマウス骨髄細胞と骨芽細胞の共存培養系に添加して破骨細胞形成を調べると、未処理微粒子曝露群では溶液のみを加えたコントロール群に比し7倍の破骨細胞が形成されたが、MPC処理微粒子曝露群ではコントロール群と有意な差がみられなかった。未処理微粒子曝露群による破骨細胞形成・活性化は、TNF- α , IL-1, IL-6それぞれの抗体、cyclooxygenase-2阻害剤、破骨細胞形成抑制因子(osteoprotegerin: OPG)の添加により抑制されたが、これらの抑制効果は微粒子のナノMPC処理による抑制効果と有意な差が見られなかった。

2. *in vivo* マウス骨吸収モデル

マウス頭蓋骨上にMPC微粒子あるいは未処理微粒子を移植し、7日後に標本作製した後、骨吸収を観察し、単位面積あたりの破骨細胞数(Oc.N/B.Pm)および骨吸収面(ES/BS)の計測を行った。未処理微粒子を移植した群では酒石酸耐性酸性ホスファターゼ(TRAP)染色陽性の破骨細胞が多数形成され、骨吸収が強力に誘導されたが、MPC処理微粒子を移植した群ではこれらが誘導されなかった(図7)。また、未処理微粒子を移植した群では破骨細胞数・骨吸収面がコントロール群のそれぞれ5倍、8倍を示したのに対し、MPC処理微粒子を移植した群ではコントロール群と有意な差がみられなかった¹⁴。

おわりに

人工股関節の構造は、生体本来のものに近づくように設計されているにもかかわらず、関節面に関しては、PE・金属・セラミックスの組み合わせが用いられており、その表面構造を生体の関節軟骨表面に近づける試みはほとんど行われてこなかった。筆者らの研究成果により、人工股関節摺動面をMPCポリマーでナノ表面処理することで、生体関節軟骨の表面と同様の構造を構築すること

が可能となること、弛みの主因となる PE 摩耗粉の産生を著減させること、かりに MPC が摩耗粉となってもそれ自体は骨吸収を誘導しないこと、が明らかになり、従来の人工股関節における課題が同時に解決できることが示された。また、最近では研究を重ねて MPC ポリマー処理方法を改善し、片足連続 2000 万歩以上という長期の負荷をかけても著明な摩耗抑制効果がみられ、その処理効果も維持されるという結果を得ている^{15,16}。現在臨床上使用されている PE ライナーが連続 300 万～1000 万歩程度の摩耗試験を経て実用化されていることを考えると、長寿命型の人工股関節の達成を期待できる研究成果と考えている。さらに、臨床応用を考えた場合、MPC ポリマーで表面処理したステント、カテーテル等の医用材料の臨床応用によって、生体内での安全性が確立されていることは利点である。最近では MPC ポリマーで表面処理された補助人工心臓の臨床試験も国内で開始されている。

特にわが国においては将来の再置換手術回数をなるべく減らすため基本的に人工股関節手術の適応が中高年以降となることが多く、若年者には骨切り術などの別の手術方法が選択されることが多いが、実際の臨床の場合においては人工股関節手術以外では治療しえない末期の股関節症の若年患者も少なくなく、治療に難渋することも多い。人工股関節の寿命を飛躍的に延長することにより、高齢社会をむかえた我が国において、関節の機能、ADL、QOL の改善に貢献するばかりでなく、従来手術の適応になり難かった若年の症例でも積極的に人工股関節手術を選択肢に加えられるなど、治療方法の選択を変える可能性を秘めている。さらに、本稿で紹介した研究成果は、荷重条件の厳しく、弛みの頻度が高い人工股関節に関するものであるが、同様の摩耗抑制機序が、膝、肘、肩などの人工関節にも応用できるものと考え、基礎検討を開始している。なお、本稿で紹介した耐摩耗人工股関節については、現在臨床試験の準備を進めている。

わが国の人工関節の市場の 80%以上が海外製品で占められているが、小柄な日本人の体格にあった人工関節も求められている。MPC ポリマーは石原らが開発した日本独自の材料であり、この特性をいかした本技術は、日本発の耐摩耗人工股関節として、国内はもとより海外においても広く用いられることが期待できる。

今回、このように栄えある賞を頂くことができたが、今後はこの日本発の技術の実用化を目指すことはもちろん、臨床医の立場から医工・産学の連携を深め、新しいバイオマテリアル技術の発展に少しでも貢献することができればよいと考えている。

本稿で紹介した内容は、東京大学医学部整形外科・脊椎外科の中村耕三教授、